



TITLE:

第2回京都大学医療技術短期大学部健康科学集談会抄録 4. In Vitro における巨核球コロニーの血小板生成について

AUTHOR(S):

中村, 紀士子; 高橋, 隆幸

CITATION:

中村, 紀士子 ...[et al]. 第2回京都大学医療技術短期大学部健康科学集談会抄録 4. In Vitro における巨核球コロニーの血小板生成について. 京都大学医療技術短期大学部紀要 1988, 8: 77-77

ISSUE DATE:

1988

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/49332>

RIGHT:

以上より, MBP は細菌感染時に細菌細胞壁の多糖を認識して結合し, この結合体が Clq に代わって補体の古典的経路の活性化を開始させ, 細菌を殺菌排除するものと考えられる。

4. In Vitro における巨核球コロニーの血小板生成について

中村紀士子¹⁾, 高橋隆幸²⁾

(京都大学医療技術短期大学部衛生技術学科¹⁾, 京都大学医学部第二内科²⁾)

〔目的〕 血小板は骨髄中の巨核球の胞体が小さく, 分離することにより形成される。一方巨核球の分化は多能性幹細胞から巨核球コロニー形成細胞 (CFU-M) の段階を経て巨核球となり, 巨核球が成熟して血小板を放出する。我々はヒト骨髄細胞の培養を行い, 巨核球コロニーの血小板生成に関して検討を行った。

〔方法〕 Multilineage colony assay により巨核球コロニーを形成させた。すなわち骨髄単核球 $1 \times 10^5/\text{ml}$, 30% 正常人血漿, 5% PHA-LCM, 5% FCS, r-Epo 1 単位, 0.85% メチルセルロースの条件で14日間培養した。巨核球コロニーを採取して塗抹標本を作成し, 巨核球および胞体から生成される血小板の細胞化学および免疫化学的検討を行った。また in situ に於ける血小板生成も観察した。

〔結果〕 巨核球コロニーの血小板生成を経時的に観察した場合, 通常培養14日頃より個々の巨核球に円形またはコン棒状の突起が見られ, 15日目にはこの数を増すと共に突起の起始部にくびれを生じる様になった。16日目には突起は巨核球から離れ, 多数の小円形物 (すなわち血小板) が巨核数の周囲を取りまくのが観察された。18日目には巨核球, 血小板の変性が始まり以後消失した。細胞免疫化学的検討では巨核数の胞体からくびれて分離する小円形物は巨核球の胞体と同じ PAS, GP IIb-IIIa および抗第Ⅷ因子陽性で血小板であることが確認された。また30% FCS を基本条件とすると13日目にすでに胞体より血小板が分離するのが観察されたが, コ

ロニーサイズも小さく, 成育も早く停止した。真性多血症患者の場合, 正常者と異なり14日目に著明な血小板生成が認められた。

〔結論〕 疾患により, あるいは培養条件により血小板生成の状態が異なる事が示唆された。

5. ヒト赤血球中アルギナーゼの精製と性質および高度特異抗体の作成

池本正生¹⁾, 田畑勝好¹⁾, 戸谷誠之²⁾, 村地 孝²⁾

(京都大学医療技術短期大学部衛生技術学科¹⁾, 京都大学医学部臨床検査医学教室²⁾)

〔目的〕 肝機能並びに血球内代謝機能を観察する上では, アルギナーゼの生体内変化量を活性および蛋白量の両面から捉えることは有効な指標と考えられる。我々は, 本酵素の精製と特異抗体の作成を行い, 臨床検査において生体情報としての酵素免疫測定法などを含む新測定法の開発とその有用性を検討した。

〔方法〕 1. ヒト赤血球から 1) アセトン処理, 2) 陽イオン交換クロマトグラフィー, 3) ゲルろ過, 4) 疎水性クロマトグラフィーによりグロブリン以外の非アルギナーゼ蛋白を完全除去後, 抗ヒトグロブリン・ウサギ抗体を用いた免疫吸収法によりグロブリンを吸収し精製ヒト赤血球アルギナーゼ蛋白を得た。2. 抗原をウサギに免疫し抗ヒト赤血球アルギナーゼ抗体を得た。3. 抗原 (ヒト赤血球アルギナーゼ) 結合セファロース 4 B を充填したカラムを用い免疫吸収法により抗体を精製した。

〔結果〕 疎水性クロマトグラフィーは, 従来本酵素の精製で分離困難であった非アルギナーゼ蛋白を効果的に除去し, 約50%の高い回収率を示す有効な方法であった。最終収率は, 10~15%と効率的であった。分子量は, セファデックス G-150 ゲルろ過で14万前後で約3万5千のサブユニットから構成される4量体で SDS-PAGE で単一であった。また本酵素の性質として阻害実験において, リジン, ホモアルギニンに対しては競合阻害を示すがカナバニン, オ